

청소년의 뇨 중에서 nicotine과 톨루엔의 분포에 관한 연구

박성우 · 서배석* · 유재훈 · 김남이 · 신호상** · 한완수*** · 김일광****

국립과학수사연구소

*가톨릭대학교 의과대학 화학과

**한국수도연구소

***목원대학교 화학과

****원광대학교 화학과

(1996. 8. 31. 접수)

Distributions of Nicotine and Toluene in Teenagers' Urine

Sungwoo Park, Baeseck Seo*, Jaehoon You, Namyee Kim, Hosang Shin**, Wansoo Han***, Ilkwang Kim****

National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-097, Korea

*Dept. of Chemistry, Catholic University Medical College, Seoul 137-701, Korea

**Korea Water Works Institute, Seoul

***Dept. of Chemistry, Mokwon University, Taejon 301-729, Korea

****Dept. of Chemistry, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

(Received Aug. 31, 1996)

요약 : 우리 나라 고교생 지원자들의 뇨 중에서 nicotine, cotinine 및 toluene을 GC/NPD, GC/FID 및 GC/MS를 이용하여 분석하여 그 분포도를 보았다. Nicotine과 cotinine은 뇨를 diethylether로 추출하고 원심분리한 뒤 그 유기층을 GC에 주입하여 분석하였다. 그 결과 흡연 군에서 nicotine의 농도 분포는 4~630 $\mu\text{g}/\text{L}$ 이었고, cotinine은 63~1,602 $\mu\text{g}/\text{L}$ 로 나타났다. 또한 톨루엔의 분석은 뇨 1mL에 citrium dextrose solution을 가해 55 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 가열한 뒤 증기상 250 μL 를 GC에 주입하는 head space법을 이용하였다. 본 지원자들의 뇨에서 모두 톨루엔은 검출되지(검출한계 : 0.1mg/L) 않았다. 그러나 국립과학수사연구소에 의뢰되는 본드류 흡입자들의 뇨 중에서 톨루엔의 농도 분포는 0.1~28.0mg/L이었다.

Abstract : We identified nicotine, cotinine and toluene in high school volunteer's urine by using GC/NPD, GC/FID and GC/MS. To analyze of nicotine and cotinine, urine samples were extracted with diethylether and centrifuged on a benchtop centrifuge for 5 min. The upper organic layer was injected into a GC. The distributions of nicotine and cotinine were 4~630 $\mu\text{g}/\text{L}$ and 63~1,602 $\mu\text{g}/\text{L}$ in smoking-group, respectively. To analyze of toluene, head space vial was filled with 2mL sodium citrate solution and 1mL of urine. The vial was warmed in a water bath at 55 $^{\circ}\text{C}$ for 20min, and then 250 μL of head space air was injected into a GC. The result show that toluene was not detected in all of the volunteers' samples. However, the range of toluene was 0.1~28.0mg/L in glue sniffer's urine samples(NISI data).

Key words : nicotine, cotinine, toluene, glue sniffing.

1. 서론

최근에는 홍보와 건강에 대한 관심의 증가로 흡연자의 전체적인 분포는 줄고 있으나, 청소년 및 여성층에게는 증가되고 있는 실정이다. 특히 여성의 흡연은 그 피해가 태아에게까지 미칠 수 있기 때문에, 그리고 청소년층의 흡연과 음주는 자칫 약물 남용으로까지 확산될 수 있기 때문에 그 심각성이 크다고 하겠다.

흡연시에는, 담배잎에 함유된 nicotine과 연소시 발생하는 타르 등의 성분이 인체에 흡수되어 구토, 현기증, 두통, 혈압 상승을 유발하고, 중추신경을 자극시키며, 각종 질병의 발생에 중요한 원인이 되기도 한다.^{1,2} 또한 연기 중에는 일산화탄소 및 미량의 hydrogen cyanide 등이 포함되어 있다. 그러나 hydrogen cyanide는 간에서 rhodanase에 의해 thiocyanate로 대사되어 뇨로 배설된다고 알려져 있고³, 일산화탄소의 경우는 혈액 중의 헤모글로빈과 결합하며 일산화탄소-헤모글로빈(COHB)을 형성하여, 최고 10%의 COHB 농도를 나타낸다고 보고되어 있다.⁴ 흡연 여부를 판단하는 데는 nicotine과 그 대사체인 cotinine을 분석하는 방법이 일반적인데⁵⁻⁷, 특히 cotinine은 체내 배출 반감기가 16~19시간으로, nicotine의 2시간보다 길기 때문에 흡연 여부를 확인 방법으로 이용되고 있다. nicotine과 cotinine의 분석법으로는 gas chromatography⁸와 high performance liquid chromatography⁹를 이용한 방법이 널리 알려져 있다.

또한, 청소년들의 사회적 문제로 대두되고 있는 불법적인 약물 남용의 가장 큰 비중을 차지하는 것이 흡입제류의 흡입이다. 흡입제류는 신나, 본드류 및 부탄가스류가 그 주종을 이루고 있으며, 이들을 인위적으로 흡입했을 경우는 유해화학물질관리법에 의해 처벌받도록 되었다. 대부분의 신나 및 본드는 그 주성분으로 톨루엔을 사용하고 있으며, 톨루엔은 중추신경 억제작용을 하여 흡입시 흥분, 환각작용과 함께 중독성으로 인해 반복적 흡입의 경우 의식장애, 감정불안, 일시적 기억상실 등의 증상과 함께 대뇌에 기질적 변화를 보이기도 한다.¹⁰ 그의 법적인 제재를 받는 용매로 환각성 유기용매는 메틸알코올과 에틸아세테이트가 있으나 이는 신나 및 본드류에는 거의 함유되어 있지 않으므로 남용의 정도는 극히 미약하다.

생체시료 중 톨루엔의 분석법으로 gas chromatog-

raphy^{11,12}법이 많이 보고되어 있다. 저자들은 우리나라 고교생 지원자 중 비흡연자 10명, 흡연자 61명을 대상으로 1주일 간격으로 채취한 뇨에서 nicotine, cotinine 및 톨루엔을 분석하였고, 또한 국립과학수사연구소에 감정의되는 본드류 흡입자들의 뇨에서 톨루엔을 분석하여, 그 농도 분포로부터 흡연과 본드류 흡입 여부를 판단하고, 법과학적인 기초 자료로 활용할 목적으로 시도하였다.

2. 실험

2.1. 기기 및 시약

분석에 이용된 gas chromatography는 NPD가 부착된 Hewlett Packard 5890 II plus(nicotine과 cotinine 분석)와 FID가 부착된 Varian 3400(toluene 분석)을 사용하였고, mass spectrometer는 Finnigan MAT ITD 800을 이용하였다. nicotine, cotinine toluene 및 iso-butanol 표준품은 Sigma(미국)사로부터, di-isopropylamine dodecane(DIPA12)는 독일 쉘렌의 생화학연구소로부터 구입하였으며, 추출용매로 사용한 diethylether는 J. T. Baker(미국)사의 HPLC grade를, sodium sulfate는 Wako(일본)사로부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 시료 채취

서울지역 ○○고등학교 학생 지원자 중 비흡연자 10명, 흡연자 61명의 뇨와 국립과학수사연구소에 의뢰되는 본드류 흡입자의 뇨 60여 개를 선정하였다.

2.3. 전처리 및 검량선

2.3.1. 시료 전처리

흡연시료 분석 경우: 시료 5mL를 정확히 취해 20mL 시험관에 넣은 다음, 내부표준물질(DIPA12, 3000mg/L) 25 μ L를 넣고, 추출용매 diethylether 1.5mL를 넣는다. 여기에 sodium sulfate 약 3g을 넣은 후 뚜껑을 닫아 15분 동안 shaker에서 흔들여 준다. 원심분리기를 이용해 2500rpm에서 5분간 원심분리시키고, 유기용매층을 분취해 GC에 주입하여 분석한다.

본드시료 분석 경우: citrium dectrose solution 2mL를 용량 15mL의 vial에 취하고 내부표준물질로 iso-butanol(5000mg/L) 50 μ L를 가한 후 뇨 1mL를

가하여 밀폐하고, 55℃ 수욕상에서 20분간 진탕시킨 후 그 증기상 250μL를 취하여 GC로 분석한다.

2.3.2. 검량선 작성

nicotine과 cotinine의 검량선 : 20mL 시험관에 증류수를 5mL씩 정확히 취해 넣고, 내부표준물질(DIP-A12, 3000mg/L) 25μL 및 nicotine과 cotinine의 혼합표준용액(1000, 1290mg/L) 2.5, 5, 12.5, 25μL를 첨가한 뒤 추출용매 diethylether를 사용하여 위에서와 같은 과정으로 추출하여 내부표준물질에 대한 각 물질의 면적비를 사용하여 검정곡선을 작성하였다. nicotine은 0~5.0mg/L와 cotinine 0~6.5mg/L의 농도 범위에서 좋은 직선성을 보였으며, 이들의 검출 한계는 1.0μg/L(nicotine)과 2.0μg/L(cotinine)이다.

톨루엔의 검량선 : 톨루엔 표준 용액(0.1μg/mg in

methanol)을 메틸알코올에 10배 희석한 용액을 증류수로 희석하여 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0mg/L의 표준 용액을 제조하고 여기에 내부 표준 용액 50μL를 가해 주었다. 이들 농도에 따른 내부표준물질에 대한 각 물질의 면적비를 사용하여 검량선을 작성하였다. toluene은 0.1~5.0mg/L와 5.0~30.0mg/L의 농도 범위에서 각각 좋은 직선성을 보였으며, 검출 한계는 0.1μg/L였으며, 이들의 검정곡선은 Table 1에 나타내었다.

2.4. 분석 조건

nicotine과 cotinine을 분석하기 위한 GC의 조건은 Table 2에, toluene의 분석조건은 Table 3에 나타내었다.

Table 1. Calibration equations and correlation coefficients of nicotine, cotinine and toluene

sample	concentration range(mg/L)	regression equation	correlation coefficient	detection limit(μg/L)
nicotine	0~5.0	$Y = 0.248x + 0.040$	0.998	1.0
cotinine	0~6.5	$Y = 0.070x + 0.008$	0.999	2.0
toluene	0~5.0	$Y = 0.236x + 0.001$	0.999	100
	5.0~30	$Y = 0.307x - 0.632$	0.999	

Table 2. GC conditions of nicotine and cotinine analysis

column	: HP-5(crosslinked 5% phenylmethyl silicon 30m × 0.32mm I. D. × 0.25μm)
oven temp.	: 100℃ (2min) → 20℃ / min → 300℃ (5min)
carrier gas flow	: N ₂ at 2.28mL / min
injector temp.	: 280℃
detector temp.	: 280℃
detector	: NPD
split ratio	: 10/1

Table 3. GC conditions of toluene analysis

column	: 5% carbowax 20M on carbopack B.
oven temp.	: 110℃ (2min) → 10℃ / min → 180℃ (10min)
carrier gas flow	: 18mL / min (He gas)
injector temp.	: 220℃
detector temp.	: 240℃
detector	: FID

3. 결과 및 고찰

3.1. 표준 시료의 분석

증류수 및 뇨 5mL에 nicotine과 cotinine을 첨가하여 용매로 추출한 후 분석한 결과 이들의 검량선은 직선 상관관계수가 0.998 또는 0.999로 우수하였으며, 또한 회수율은 99%의 양호함을 보였다. 툴루엔의 표준용액 검량선은 그 직선상관계수가 0.999로 우수하였으며 뇨에서 head space법의 회수율은 94% 이상으로 양호함을 보였다.

3.2. 시료의 분석

2.3.1항에 준하여 분석한 결과 Fig. 1에서 보듯이 각 물질의 retention time은 nicotine이 3.4min, cotinine이 5.4min, 내부표준물질인 DIPA12는 7.5min이며, 이

들의 함량은 Table 4에서 보여 주는 바와 같이 비흡연자의 경우 경시 변화에 따른 nicotine과 cotinine은 모두 검출되지 않았으며, 흡연군(61명)에서 nicotine의 농도 범위는 4~630 μ g/L, cotinine은 63~1,602 μ g/L이며, nicotine과 cotinine이 2주 경과 후까지 모두 검출되지 않은 경우도 6건이 있었다. 비흡연자의 경우 nicotine의 농도가 0~64 μ g/L(평균 10 μ g/L)이나, 흡연실에서 78분 동안 있는 후에는 13~208 μ g/L(평균 80 μ g/L)로 증가하며, 하루에 8~70개의 담배를 피우는 흡연자들의 nicotine의 농도는 104~2,743 μ g/L(평균 1,236 μ g/L)이고, cotinine은 비흡연자의 경우 0.7mg/L, 흡연자의 경우 8.6mg/g이라는 보고¹³와 비교해 볼 때 우리나라 청소년들의 흡연 여부는 그 양적으로 심각한 편이 아니라고 사료되나, 흡연 수요 및 금연의 어려움을 생각하면 그 심각성은 증가된다.

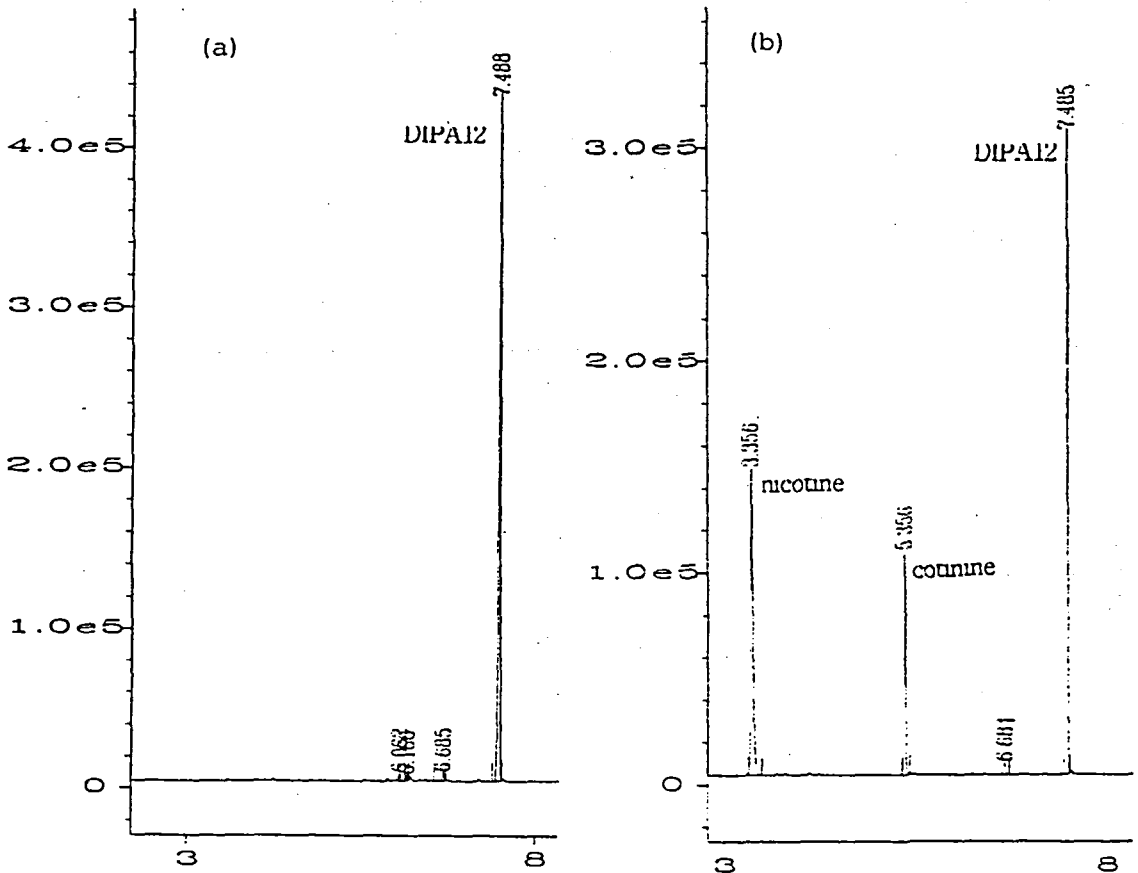


Fig 1. Gas chromatograms of nicotine and cotinine
a) blank urine b) smoker's urine

Table 4. Nicotine and cotinine concentrations of 71 volunteers' urine

group	No.	first test			second test (after 1 week)			third test (after 2 weeks)		
		nicotine	cotinine	toluene	nicotine	cotinine	toluene	nicotine	cotinine	toluene
non-smoking group	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
smoking group	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	0.146	0.357	-	-	0.479	-	0.096	0.333	-
	3	0.039	0.632	-	0.072	-	-	0.040	0.542	-
	4	0.067	0.839	-	0.057	0.634	-	0.010	0.543	-
	5	0.011	0.717	-	-	0.261	-	0.006	0.427	-
	6	0.027	0.102	-	0.047	0.202	-	0.027	0.240	-
	7	0.163	-	-	0.612	0.296	-	0.093	0.101	-
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	0.065	0.319	-	0.064	0.673	-	0.031	0.445	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	-	0.142	-	-	0.377	-	-	0.240	-
	12	0.018	0.400	-	0.134	0.408	-	0.035	0.450	-
	13	-	0.230	-	0.055	0.263	-	-	0.063	-
	14	0.135	0.104	-	0.316	0.164	-	0.104	0.117	-
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	-	0.600	-	0.042	0.166	-	0.043	0.384	-
	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	0.004	0.145	-	-	0.393	-	0.006	0.115	-
	19	0.115	0.260	-	0.074	0.236	-	0.630	1.155	-
	20	-	0.514	-	0.083	0.536	-	0.127	1.113	-
	21	-	0.561	-	-	0.507	-	-	0.322	-
22	0.078	0.945	-	-	0.486	-	-	0.738	-	
23	-	0.164	-	0.064	0.412	-	0.219	0.758	-	
24	0.071	0.268	-	0.049	0.381	-	-	0.281	-	
25	0.056	0.211	-	-	0.348	-	-	-	-	
26	0.061	0.290	-	-	0.686	-	-	0.621	-	
27	-	0.139	-	0.055	0.640	-	0.231	1.592	-	
28	0.093	0.502	-	0.036	0.144	-	-	0.480	-	
29	-	0.181	-	-	0.685	-	-	-	-	
30	0.087	0.146	-	-	0.335	-	-	0.211	-	
31	0.043	0.492	-	-	0.553	-	0.098	0.596	-	

32	0.061	0.551	-	0.054	0.435	-	0.149	0.474	-
33	-	0.431	-	-	0.427	-	0.105	0.562	-
34	-	0.549	-	-	0.629	-	-	0.733	-
35	-	0.265	-	-	-	-	-	0.195	-
36	0.150	0.676	-	0.075	0.467	-	0.784	0.605	-
37	0.042	0.432	-	-	0.392	-	0.083	0.504	-
38	-	0.581	-	-	0.487	-	0.059	0.572	-
39	0.049	-	-	0.079	-	-	0.193	0.167	-
40	-	0.341	-	-	0.325	-	-	0.251	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	0.133	-	-	0.171	-	-	-	-
43	-	0.169	-	-	0.269	-	-	0.362	-
44	0.074	0.537	-	0.082	0.608	-	-	0.304	-
45	0.029	0.503	-	-	0.537	-	-	0.441	-
46	0.044	0.257	-	-	0.288	-	-	0.179	-
47	-	0.169	-	-	0.239	-	-	0.362	-
48	0.054	0.368	-	0.063	0.405	-	-	0.325	-
49	-	-	-	0.067	0.233	-	-	0.373	-
50	-	0.167	-	-	0.120	-	-	-	-
51	-	0.625	-	0.109	0.830	-	-	1.330	-
52	0.018	0.383	-	*	*	*	0.055	0.440	-
53	0.044	0.300	-	*	*	*	0.202	0.220	-
54	0.518	0.628	-	*	*	*	*	*	*
55	0.453	1.602	-	0.189	1.466	-	*	*	*
56	-	0.491	-	*	*	*	*	*	*
57	-	0.642	-	*	*	*	*	*	*
58	-	0.331	-	*	*	*	*	*	*
59	-	0.351	-	*	*	*	*	*	*
60	-	0.111	-	*	*	*	*	*	*
61	0.042	0.444	-	*	*	*	*	*	*

- : not detected * : not tested

또한 같은 시료로 톨루엔을 분석한 결과 톨루엔의 retention time이 5.6min이고, 내부표준물질인 isobutanol의 retention time은 3.9min이었다. Table 4에서 보듯이 비흡연군과 흡연군 모두에서 톨루엔은 검출되지 않음으로 미루어 불법적인 신나 및 본드류의 흡입은 없었다. 그러나 국가수에 의뢰된 본드류 흡입자의 뇨 중에서 톨루엔을 분석한 결과(Fig. 2) 0.1~28.0mg/L의 톨루엔 농도 분포(Table 5)를 나타내었다. 이 중 0.5~5.0mg/L의 농도 분포를 나타내는 것이 26건으로 43%를 차지하며, 0.5mg/L 미만은 25건(42%)를 보이고 있다. 문헌에 의하면 외국의 경우 본드류 흡입자들의 뇨 중 농도 분포는 0~5.0mg/L, 혈액 중에

서는 0.3~13mg/L¹⁴임과 비교해 볼 때 비슷하거나, 다소 높은 수준임을 알 수 있었다.

4. 결론

뇨 중에서 nicotine, cotinine 및 toluene을 GC를 이용하여 분석한 결과 직선상관계수가 모두 0.99로 양호하였으며, 검출한계는 각각 1.0 μ g/L, 2.0 μ g/L 및 100 μ g/L였다. 실제 고교 지원자(71명)를 대상으로 1주일 간격으로 채취한 뇨에서 분석한 결과 흡연군(61명)에서 nicotine의 농도분포는 4~630 μ g/L, cotinine은 63~1,602 μ g/L였고, 이 중 6명은 3회 연속 nic-

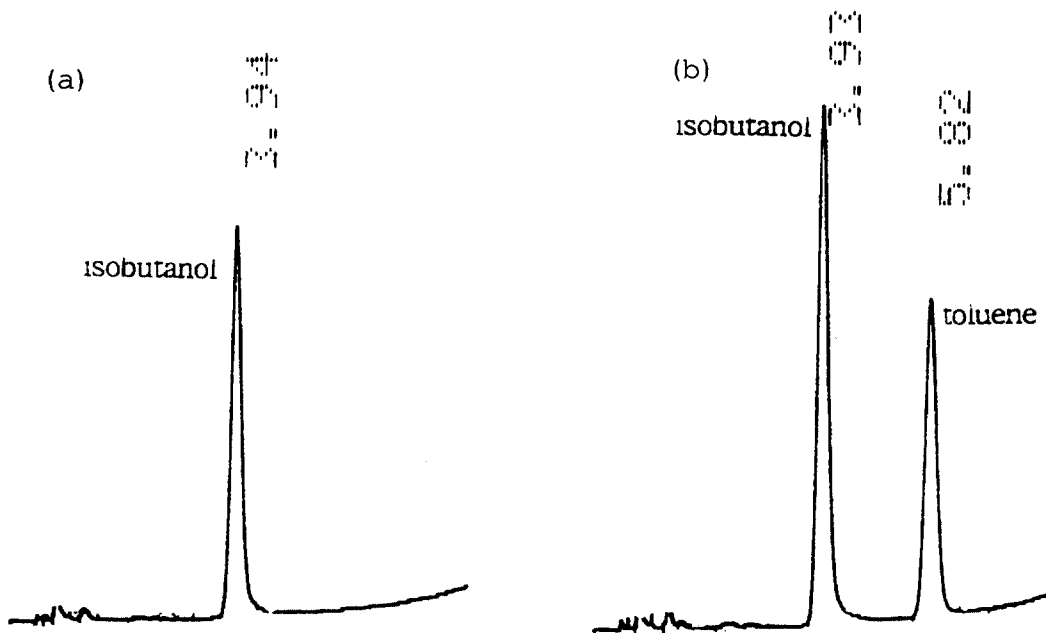


Fig 2. Gas chromatograms of toluene
a) blank urine b) glue sniffer's urine

Table 5. Toluene concentration of glue sniffers' urine (mg/L).

No.	toluene	No.	toluene
1	1.2	31	1.4
2	1.4	32	1.3
3	0.7	33	3.9
4	0.9	34	4.9
5	0.6	35	0.6
6	0.5	36	28.0
7	0.1	37	10.9
8	0.2	38	-
9	0.3	39	5.6
10	0.4	40	2.5
11	-	41	1.5
12	7.6	42	1.4
13	0.6	43	0.2
14	3.1	44	0.1
15	0.1	45	0.1
16	0.1	46	0.1
17	0.1	47	0.6
18	0.1	48	0.3
19	0.1	49	0.1
20	0.2	50	0.3
21	2.1	51	15.1

22	0.9	52	0.2
23	0.8	53	1.2
24	2.9	54	9.5
25	0.6	55	9.3
26	1.3	56	0.3
27	4.6	57	13.2
28	0.2	58	0.3
29	3.2	59	-
30	0.2	60	16.7

- : not detected

otine과 cotinine이 검출되지 않았다. 또한 이들의 뇨 중에서 톨루엔은 검출되지 않음으로 미루어 이들은 흡연을 하지만 본드류의 흡입은 하지 않는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. A. Remond and C. Izard, "Electrophysical Effects of Nicotine", p.31, Elsevier U.S.A.(1979).
2. A. Remond and C. Izard, "Electrophysical Effects of Nicotine", p.99, Elsevier U.S.A.(1979).
3. R. C. Baselt and R. H. Cravey, "Disposition of

- toxic drugs and chemicals in man", 3rd, p.224, Yearbook Medical, Chicago(1989).
4. R. D. Stewart, *Ann. Rev. Pharm.*, **15**, 409(1975).
 5. L. E. Wagenknect, G. L. Burke, L. L. Perkins, N. J. Haley and G. D. Froedman, *American J. of Public Health*, **82**, 33(1992).
 6. P. Hill, N. J. Hai and E. L. Wynder, *J. Chron Dis.*, **36**, 439(1983).
 7. M. J. Jarvis, M. A. H. Russell, N. L. Benowitz and C. Feyerabend, *Am. J. Public Health*, **78**, 696 (1988).
 8. P. Kintz, *J. of Chromatography*, **580**, 347(1992).
 9. M. Hariharan and T. VanNoord, *Clin. Chem.*, **37**, 1276(1991).
 10. S. W. Park, Y. N. Choi, K. Y. Lee, N. Y. Kim and Y. G. Yang, *Annual Report of NISI*, **26**, 214 (1994).
 11. 加藤 健一, 永田 武明, 木村 恒二郎, 工藤惠子, 今村 徹, *Jpn. J. Legal Med.*, **43**, 70(1989).
 12. A. D. Jones and M. R. Dunlap, *J. of Anal. Toxicol.*, **18**, 251(1994).
 13. S. Matsukura, T. Taminato, and N. Kitano, *New Eng. J. Med.*, **311**, 828(1984).
 14. R. C. Baselt and R. H. Cravey, "Disposition of toxic drugs and chemicals in man", 3rrd, p.812, Yearbook Medical, Chicago(1989).